

**Projekttitel:** Modulation des Hsp90-Aha1 Chaperon Systems zur Korrektur des Faltungsdefekts des CFTRF508 Proteins bei der Mukoviszidose

**Projektnummer:** S03/10

### **Beteiligte**

**Wissenschaftler:** PD Dr. Wolfgang Obermann, Dr. Martina Gentzsch, Prof. Dr. Wolf-Michael Weber

**Laufzeit:** 01.05.2011-31.01.2015

**Datum Projektabschluss:** 31.03.2015

**Fördervolumen:** 180.000 EURO

### **Ziel des Projekts:**

Die Mukoviszidose oder Zystische Fibrose gehört zu den seltenen genetischen Erkrankungen und betrifft eines von etwa 2000 bis 3000 Neugeborenen. Die Krankheit ist gekennzeichnet durch die Akkumulation eines zähen Schleimes in der Lunge, der die Atemfunktion beeinträchtigt und zu bakteriellen Infektionen führt. Die weitaus häufigste molekulare Ursache ist der Verlust der Aminosäure Phenylalanin an der Position 508 des Proteins CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), einem Chlorid Kanal des Lungenepithels. Als Folge der Mutation wird das Protein von der zellulären Qualitätskontrolle erkannt und abgebaut. Der Verlust des mutierten CFTR Kanals führt zur Abnahme von Chlorid- und Wassergehalt des Lungenschleims, wodurch seine Viskosität zunimmt. Der mutierte, aber noch teil-weise funktionelle CFTR Kanal wird von Chaperon Proteinen erkannt und zum Abbau markiert.

Unser Ziel ist es dies zu verhindern, indem wir durch pharmazeutische Wirkstoffe die verantwortlichen Chaperone inaktivieren. Dazu werden wir die Chaperon Systeme mit synthetisch hergestellten Proteinen rekonstituieren und sie dazu benutzen, aus einer Wirkstoffbibliothek Substanzen zu identifizieren, die die Chaperone hemmen. Dadurch soll der Abbau des mutierten CFTR Proteins verhindert und damit die Chloridkanal Aktivität erhöht werden, um die Mukoviszidose zu lindern.

### **Ergebnisse:**

Aus einer Wirkstoffbibliothek mit 14.400 chemischen Substanzen, haben wir mit Hilfe der ALPHA (Amplified Luminescence Proximity Homogeneous Assay) Screen Technologie 11 Verbindungen isoliert, die den Komplex aus dem molekularen Chaperon Hsp90 und seinem Ko-Chaperon Partner Aha1 hemmen. Wir haben diese Substanzen in verschiedenen Testsystemen auf ihre Wirksamkeit hin untersucht, die Chloridkanal Aktivität in Zellen zu erhöhen, die das mutierte CFTR Protein exprimieren. In BHK Zellen, die das mutierte CFTR Protein exprimieren, haben wir durch Behandlung mit den Kandidaten Drogen zwei Substanzen identifiziert, die im Iodid-Efflux Test zu einer Erhöhung der Kanalaktivität führen. Zusammen mit dem bekannten Korrektor VX-809 führte die Behandlung mit diesen Verbindungen zu einer potenzierten, synergistischen Wirkung. In Frosch Oozyten, die das mutierte CFTR Protein exprimierten, führte die Behandlung mit einer Substanz zu einer Erhöhung der Membrankapazität, des Chloridstromes über die Membran hinweg und zu einer Erhöhung der Leitfähigkeit. In Primärzellen eines Mukoviszidose Patienten zeigte eine Substanz in Kombination mit dem Korrektor VX-809 eine Erhöhung des Chlorid Stromes über die Membran hinweg. Als Ergebnis dieses Projektes konnte eine Leitsubstanz identifiziert werden, die in allen drei beschriebenen Testsystemen die Chloridkanal Aktivität in Zellen mit dem mutierten CFTR Protein erhöht und damit als Ausgangssubstanz für einen Wirkstoff zur Behandlung der Mukoviszidose dienen kann.